Aus dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie
der Universität Breslau
Direktor: Prof. Dr. O. Eichler

Untersuchungen an Ratten über die Beeinflussung von Harnmenge und Harnchlor durch subkutane Injektionen von Coffein und von destilliertem Wasser

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades in der Zahnheilkunde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau

vorgelegt von
Alfons Irmer
Zahnarzt

1939

Druck: Schlesische Verlagsanstalt und Druckerei Karl Klossok K.-G., Breslau.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität zu Breslau

---

1. Referent: Dozent Dr. Vollmer
2. Referent: Prof. Dr. Eichler
Dekan: Prof. Dr. Gutzeit

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Über die bekannte diuretische Wirkung der Purinkörper liegen zahlreiche Untersuchungen vor. Diese haben gezeigt, daß nicht allein die Harnmenge vermehrt ist, sondern auch die Ausscheidung fester Substanzen, namentlich der Salze. Dabei wurde die Ausscheidung von Kalium, Natrium, Magnesium, Calcium und Phosphaten nur vereinzelt, die Ausscheidung der Chloride wiederholt geprüft. Alle Untersucher haben sich darauf beschränkt, die Veränderungen über kurze Zeit, bestenfalls über einen Tag zu verfolgen.

Eine über längere Versuchsperioden durchgeführte Prüfung der Ausscheidung verschiedener Mineralstoffe wäre aber namentlich im Hinblick auf extrarenale Faktoren der Purinkörperdiurese wichtig. Solche extrarenale Faktoren wurden wiederholt in Erwägung gezogen und wahrscheinlich gemacht, aber niemals systematisch geprüft.

Die vorliegende Arbeit ist ein Teil einer größeren Untersuchung, in der die Wirkung des Coffeins auf Salzausscheidung und Harnmenge mit der namentlich von amerikanischen Forschern entwickelten Stoffwechselmethodik im Bilanzversuch über längere Zeit geprüft wurde. In diesem Arbeitsplan werden außer der Wirkung einmaliger Coffeingaben die Verhältnisse bei der Coffeingewöhnung bearbeitet, da hier extrarenale Faktoren in Form von Gegenregulationen verhanden sein müssen. In erster Linie interessierte dabei das Verhalten von Chlor, Kalium und Natrium. Die nachstehend beschriebenen Untersuchungen beschäftigten sich mit der Beeinflussung der Chlorausscheidung und der Harnmenge durch einmalige Coffeininjektion.

Methodik.

Diät: Hinsichtlich des Futters lehnten wir uns an Angaben von Miller[1] an und verwendeten eine Diät, bei der in Millers Versuchen junge Ratten optimale Gewichtsentwicklung zeigten.

Dieses Futter stellten wir in einzelnen Portionen folgendermaßen her: 13,5 g Salzgemisch, 90 g Casein, 10 g Trockenhefe,

[1] Miller; J. biol. Chem. 55, 45 u. 61 (1923).

372 g Stärke und 10 ccm Lebertran wurden in einem Mörser sorgfältig gemischt. 10 g Agar-Agar wurden in 1100 ccm Wasser gerade aufgekocht und die heiße Lösung dem Pulver zugesetzt. Zur gleichmäßigen Durchmischung bearbeiteten wir das Gemenge, das eine pastenartige Konsistenz angenommen hatte, 20 Minuten mit dem Pistill; danach wurde noch 10 Minuten durchgeknetet.

Das Salzgemisch bestand aus 40 Teilen NaCl, 62 Teilen $MgSO_4$, 41 Teilen Na_2HPO_4, 223 Teilen K_2HPO_4, 223 Teilen $Ca_2H_2(PO_4)_2$ $4H_2O$, 57 Teilen Calcium lacticum und 27 Teilen Ferrum citricum.

Das fertige Futter bewahrten wir im Eisschrank auf. Der Gehalt an Trockensubstanz betrug 28,4—31,9%, im Durchschnitt 30,0%. Bei dieser Diät ist eine weitere Wasserzufuhr nicht notwendig.

Versuchsanordnung: Als Versuchstiere wurden Ratten im Gewicht von 200—300 g verwendet. Diese erhielten über längere Zeit unser Futter und zwar im allgemeinen 40 g, in einer Serie 45 g pro Tag. Selbst große Ratten fraßen häufig 50 g, um 200 g schwere Tiere 45 g nicht auf. Um ein Gleichgewicht zu erzielen, wurde 5—7 Tage lang mit abgewogenen Futtermengen vorgefüttert. Dieser Vorperiode folgte eine Versuchsperiode von 8—16 Tagen, in der die Normalwerte (Tagesharnmenge, Chlor im Tagesharn, Trockengewicht der Faeces und in den meisten Versuchen Faeces-Cl) ermittelt wurden. Daran schloß sich eine Hauptperiode mit ein- bis mehrmaligen subkutanen Gaben von Coffein oder Wasser. — Es hatte sich nämlich gegen unser Erwarten gezeigt, daß schon die subkutane Injektion ganz kleiner Wassermengen, z. B. 0,1 ccm/100 g zu langdauernder Störung der Wasser- und Chlorbilanz führte. Für die Coffeininjektionen wurde eine einprozentige Lösung von Coffeinum purum verwendet. Die Tiere wurden jeden Tag zur gleichen Zeit in einen anderen Diuresekäfig umgesetzt. Sie verblieben während der ganzen Versuchsdauer in den Versuchsgefäßen. Da verschiedentlich Harnverluste beim Wägen aufgetreten waren, wurde das Gewicht nur 2—3mal ermittelt.

Chlorbestimmung: Für die Untersuchung wurde der Tagesharn der einzelnen Tiere verwendet, bei Faeces ein Gemisch der Tagesfaeces zusammengehöriger Tiere[2]. Die Bestimmung im Harn erfolgte nach Volhard. Das Chlor in den Faeces bestimmten wir folgendermaßen: 1 g der fein verriebenen Faeces wurde 3mal mit Wasser ausgekocht, der Rückstand unter Zusetzung von HNO_3

[2] Harn und Faeces sind weiterhin für die Prüfung der Ausscheidung an Kalium und Natrium verwendet worden.

verkocht. Die vereinigten Auszüge wurden auf 100 ccm aufgefüllt. Entsprechend der geringen Chlormenge in den Faeces, verwendeten wir 50 ccm dieser Lösung zur Bestimmung. Zu diesen 50 ccm wurden 5 ccm n/50 $AgNO_3$-Lösung gegeben, danach unter Zufügung weiterer HNO_3 und von $KMnO_4$-Lösung klar gekocht (Prinzip des „offenen Carius"). Nachdem der größte Teil der Salpetersäure abgedampft war, wurde mit n/50 Rhodanidlösung titriert.

Da wir für die Herstellung des Futters Stärke, Casein und Hefe des Handels, also Materialien mit Mineralstoffen verwendeten, wurde auch der Chlorgehalt des Futters bestimmt. Dabei haben wir das getrocknete fein verriebene Futter mit dünner NaOH homogenisiert, dann mit HNO_3 schwach angesäuert und n/50 $AgNO_3$-Lösung zugefügt, schließlich mit konz. HNO_3 klar gekocht. Zur Entfärbung waren kleine Mengen Permanganat nötig. Der Cl-Gehalt des Futters war sehr einheitlich, er lag zwischen 20,34—22,97 mg pro 40 g Futterportion und betrug im Durchschnitt 22,08.

Auswertung: In allen Versuchsgruppen wurden in üblicher Weise die Streuung der Mittelwerte, ferner die Streuung der Differenz gegenüber dem Normalwert errechnet. Die in allen Fällen in den Tabellen angegebenen Streuungen der Differenzen zeigen eindeutig, ob die Differenzen statistisch echt sind oder nicht. In Versuchen, wie wir sie durchführen, wird man allerdings auch Differenzen für beweisend halten, die innerhalb des dreifachen ihrer Streuung liegen, wenn an aufeinanderfolgenden Tagen gleichsinnige Änderungen auftreten. Wir haben unter der Voraussetzung, daß es sich um Gaussche Verteilung handelt, die durch Mittelwert und Streuung definiert ist, die Wahrscheinlichkeit errechnet, daß die Differenz echt ist. Diese Berechnung hat natürlich nur dann Bedeutung, wenn die Differenz geringer als das dreifache der Streuung ist. In unseren Tabellen sind Werte, die innerhalb der einfachen Streuung liegen, bei der Auswertung nicht berücksichtigt. Die Tabellen zeigen, daß bei unseren entscheidenden Befunden die Differenzen das dreifache ihrer Streuung überschreiten.

Chlorgehalt der Faeces und Chlor-Bilanz.

Es ist bekannt, daß in den Faeces nur ein geringer Teil des mit der Nahrung zugeführten Chlors ausgeschieden wird. An Ratten fanden Mitchell und Carman[3] bei Zufuhr von 4,2—90,5 mg Futter-Chlor in den Faeces 0,1—1,7 mg wieder. Diese Werte

[3] Mitchell u. Carman; J. biol. Chem. 68, 165 (1936).

liegen in der gleichen Größenordnung wie die von uns ermittelten. Wir fanden bei einer Zufuhr von 20,34 mg Chlor täglich in 24 Normaltagen Werte von 0,27—0,87 mg, bei einer Zufuhr von 25,22 mg an 16 Normaltagen Werte von 0,67—2,34 mg.

Die subkutane Verabfolgung von Coffein beeinflußt den Chlorgehalt der Faeces nicht. In den Versuchsserien, für die vorstehend Normalwerte angegeben sind, fanden wir am Tage der Coffeininjektion und den 3—8 Folgetagen Werte von 0,31—0,87 mg, bzw. 0,87—1,55 mg.

Die in Kot und Harn wiedergefundene Chlormenge lag an den Normaltagen nur selten unter 89% der Zufuhr, im allgemeinen betrug sie 90% und mehr. Es wird davon abgesehen, Einzelwerte für die Bilanz oder einen Durchschnittswert anzugeben. Dies wird später geschehen, wenn das Material der übrigen Untersuchungsreihen vorliegt und die Verhältnisse auch für Natrium und Kalium endgültig festgelegt sind.

Bei der nachstehenden Darstellung der Wirkung des Coffeins und Wassers auf die Chlorausscheidung können entsprechend den geschilderten Befunden die Faeces unberücksichtigt bleiben.

Wirkung der Injektion von destilliertem Wasser auf Harnmenge und Harnchlor.

Über die Wirkung subkutaner Injektionen von kleinen Flüssigkeitsmengen auf die Harnmenge und das Harnchlor ist nichts bekannt. Um eine solche Wirkung bei unseren in den Coffeinversuchen erhobenen Befunden auszuschließen, wurden in einer größeren Zahl von Versuchen Wassermengen von 0,1—1 ccm/100 g injiziert. Diese Mengen entsprechen den Flüssigkeitsmengen in den Coffeinversuchen mit Dosen von 1—10 mg/100 g Ratte. Von der Injektion physiologischer Kochsalzlösung wurde abgesehen, da an diesen Tieren auch der K- und Na-Stoffwechsel geprüft werden sollte. Die Ergebnisse dieser Versuche zeigen die Tabellen 1 und 2.

Beeinflussung der Harnmenge: In der Tabelle 1 sind die Veränderungen der Harnmenge zusammengefaßt. Dabei sind Versuche mit der gleichen Dosis aber aus verschiedenen Tierserien getrennt dargestellt worden. Um die Tabellen nicht unnötig zu vergrößern, haben wir auf die Angabe der absoluten Werte verzichtet und lediglich die zugrundeliegenden Normalwerte und die Differenzen gegenüber diesen angegeben.

Die Tabelle läßt erkennen, daß die einmalige Injektion von 0,1—0,25 ccm/100 g die Harnmenge der nächsten 24 Stunden nicht ändert. Dagegen kommt es am 2. und 3. Tage zu Schwankungen.

Diese sind am 3. Tage in Form von Steigerungen in den drei Versuchsgruppen gleichsinnig. Am 4. Tage ist die Harnmenge wieder normal. Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei den Untersuchungen mit 0,5 ccm/100 g. Auch hier zeigen sich Harnvermehrungen am 3. Tage nach der Injektion. In Versuchen an 24 Tieren ist somit festgestellt, daß die Injektion kleiner Mengen destillierten Wassers am 3. Tage nach der Injektion die Harnmenge vermehrt. Etwas anderes ist, wie die Tabelle aufweist, der Befund bei der Injektion von 1 ccm/100 g. Hier treten ebenfalls Diuresesteigerungen auf, doch zeigten sich diese in zwei Gruppen schon am 1. Tage und hielten bis zum 3. Tage an. Die letzte Gruppe wies eine Harnvermehrung nur am 2. Tage auf.

Beeinflussung des Harnchlors: Völlig anders, aber doch gleichsinnig, ist die Beeinflussung des Harnchlors durch eine einmalige Wasserinjektion. Die diesbezüglichen Ergebnisse sind in der Tabelle 2 dargestellt, die in ihrer Anlage der Tabelle 1 entspricht[4]. Während die Harnmenge am 1. Tag nach der Injektion in den Versuchen mit 0,1—0,5 ccm/100 g unverändert blieb und in zwei von drei Versuchsgruppen mit 1 ccm/100 g gesteigert war, zeigten mit einer Ausnahme sämtliche Versuchsgruppen eine Verminderung der Chlorausscheidung. Diese Verminderung ist mit 11—54% beträchtlich. Die vorliegenden Versuche lassen keine Abhängigkeit von der Dosierung erkennen. Am 2. Tage nach der Injektion wiesen lediglich diejenigen Tiere eine allerdings beträchtliche Chlorverminderung auf, deren Ausscheidung am 1. Tage normal geblieben war, die übrigen Tiere (sechs Versuchsgruppen) zeigten eine Chlorvermehrung. Diese hielt zum Teil noch am 3. Tage an. Am 4. Tage waren die Chlorwerte praktisch in allen Fällen wieder normal.

Die vorstehend geschilderten Versuche lassen eindeutig erkennen, daß eine einmalige Injektion von destilliertem Wasser die Ausscheidung von Wasser und Chlor durch die Niere an den Folgetagen beeinflußt. Diese Beeinflussung ist aber nicht gleichsinnig. Sie ist vor allem gekennzeichnet durch eine starke Verminderung des Harnchlors am 1. Tage nach der Injektion, der eine Mehrausscheidung an den nächsten beiden Tagen folgt. Dem stehen hinsichtlich der Harnmenge Veränderungen gegenüber, die bei kleinen Injektionsmengen (0,1—0,5% des Körpergewichts) erst am 3., in einigen Fällen am 2. Tage, bei größeren Injektionsmengen (1% des Körpergewichts) schon am 1. Tage deutlich werden. Das Führende ist offenbar das Chlorid.

[4] Das Harnchlor ist stets in Millimol ausgedrückt, da im Rahmen der Gesamtuntersuchung Beziehungen zwischen Na, K und Cl betrachtet werden sollen.

Tabelle 1 Wirkung einer einmaligen Injektion vo

Nr.	Zahl der Tiere	Normalwert	injiz. Wassermenge ccm/100 g	Differenz gegenübe	
				1. Tag	2. Tag
1	5	15,6 ± 0,33	0,1	−0,2 ± 1,02	−2,0 ± 0,24
2	5	17,3 ± 0,35	0,1	−0,7 ± 1,18	+1,8 ± 1,2
3	4	19,4 ± 0,21	0,25	−0,1 ± 0,73	−0,6 ± 1,1
4	5	wie 1	0,5	−0,9 ± 0,74	+1,7 ± 0,79
5	5	wie 2	0,5	−0,3 ± 0,82	0,0 ± 0,81
6	6	20,3 ± 0,35	1,0	+2,9 ± 1,06	+3,7 ± 1,19
7	4	18,5 ± 0,26	1,0	+1,8 ± 1,31	+5,0 ± 1,39
8	5	wie 2	1,0	+0,8 ± 1,19	+3,1 ± 0,70

Tabelle 2 Wirkung einer einmaligen Injektion vo

(Die Numerierung der Grupp

Nr.	Zahl der Tiere	Normalwert C1 in Millimol	injizierte Wassermenge ccm/100 g	Differenz gegenübe	
				1. Tag	2. Tag
1	5	0,54 ± 0,013	0,1	0,0 ± 0,01	−0,18 ± 0,07
2	5	0,52 ± 0,016	0,1	−0,12 ± 0,04	+0,06 ± 0,03
3	4	wie 1	0,25	−0,13 ± 0,05	+0,07 ± 0,06
4	5	wie 1	0,5	−0,21 ± 0,02	+0,02 ± 0,01
5	5	wie 2	0,5	−0,13 ± 0,02	+0,05 ± 0,03
6	6	0,61 ± 0,016	1,0	−0,07 ± 0,03	+0,02 ± 0,05
7	4	wie 6	1,0	−0,12 ± 0,03	+0,07 ± 0,03
8	5	wie 2	1,0	−0,09 ± 0,03	+0,09 ± 0,02

lestilliertem Wasser auf die Harnmenge

Normalwert mit Streuung			Änderung in %				
3. Tag	4. Tag	5. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
+3,0 ± 0,86			—	−12,8	+19,9		
+2,8 ± 0,82	+0,6 ± 0,79		—	+10,4	+16,2	—	
+1,5 ± 0,61	+0,5 ± 1,25	+1,1 ± 1,33	—	—	+ 7,7	—	—
+1,8 ± 1,13			− 5,8	+10,9	+11,5		
+1,5 ± 0,91	−1,4 ± 0,68	+2,2 ± 0,68	—	—	+ 8,9	−8,8	+11,5
+2,7 ± 1,20	+0,7 ± 0,95		+14,9	+19,0	+13,3	—	
+2,9 ± 2,0	+0,4 ± 1,71		+ 9,2	+25,0	+14,9	—	
+0,1 ± 0,65	+0,1 ± 0,87		—	+17,9	—	—	

lestilliertem Wasser auf das Harn-C l

ntspricht der Tabelle 1)

Normalwert mit Streuung			Änderung in %				
3. Tag	4. Tag	5. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
+0,04 ± 0,03			—	−33,3	+ 7,4		
+0,09 ± 0,05	−0,02 ± 0,003		−23,0	+11,5	+17,3	− 3,8	
+0,08 ± 0,01	+0,02 ± 0,05	+0,04 ± 0,05	−24,1	+13,0	+15,0	—	+7,5
+0,09 ± 0,04			−53,7	+ 3,7	+16,7		
+0,07 ± 0,04	−0,01 ± 0,03	+0,02 ± 0,02	−25,0	+ 9,6	+13,5	—	+4,0
+0,01 ± 0,06	−0,07 ± 0,02		−11,5	—	—	−11,5	
0,0 ± 0,05	−0,03 ± 0,05		−19,6	+11,5	—	—	
−0,06 ± 0,02	0,0 ± 0,03		−17,3	+17,3	−11,8	—	

Tabelle 3 **Harnmengen nach**

a)

Nr.	Zahl der Tiere	Normalwert	Coffeindosis mg/100 g	1. Tag	2. Tag
1	10	15,6 ± 0,33	1,0	14,6 ± 0,73	16,0 ± 0,91
2	5	19,4 ± 0,21	2,5	19,5 ± 2,00	19,8 ± 0,96
3	5	wie 2	2,5	18,6 ± 0,81	20,4 ± 1,19
4	5	wie 2	5,0	19,1 ± 1,43	20,0 ± 1,62
5	4	wie 2	5,0	17,3 ± 0,55	21,7 ± 1,54
6	4	18,5 ± 0,26	5,0	19,2 ± 2,02	21,5 ± 1,10
7	5	wie 2	10,0	19,1 ± 1,65	20,2 ± 0,44

b) A

Nr.	Differenz gegenüber Normalwert					
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag
1	−1,0 ± 0,80	+0,4 ± 0,98	+0,8 ± 0,60	+0,2 ± 0,80	−0,6 ± 0,77	
2	+0,1 ± 2,01	+0,4 ± 0,98	+1,8 ± 1,3[illegible]	−0,2 ± 0,75	−0,3 ± 0,90	−1,1 ± 0,80
3	−0,8 ± 0,83	+1,0 ± 1,21	+3,1 ± 0,95	+1,8 ± 1,00	+1,9 ± 0,69	
4	−0,3 ± 1,45	+0,6 ± 1,04	+2,7 ± 0,86	+1,8 ± 1,[illegible]5		
5	−2,1 ± 0,59	+2,1 ± 1,56	+2,6 ± 0,84	+1,4 ± 1,48	+2,2 ± 1,83	+2,9 ± 1,14
6	+0,7 ± 2,04	+3,0 ± 1,13	+3,0 ± 1,40	+2,9 ± 1,53	+5,1 ± 2,03	+0,3 ± 2,06
7	−0,3 ± 1,66	+0,8 ± 0,49	+3,3 ± 0,69	+1,8 ± 1,33	+1,3 ± 1,17	+2,4 ± 1,16

*) Wahrscheinlichkeit 68%

en Coffeingaben

de

Durchschnittswerte					
3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag
16,4 ± 0,50	15,8 ± 0,61	15,0 ± 0,69			
21,2 ± 1,32	19,2 ± 0,72	19,1 ± 0,88	18,3 ± 0,77	19,5 ± 3,13	
22,5 ± 0,93	21,2 ± 0,99	21,3 ± 0,66			
22,1 ± 0,83	21,2 ± 1,35				
22,0 ± 0,81	20,8 ± 1,46	21,6 ± 1,81	22,3 ± 1,12		
21,5 ± 1,38	21,4 ± 1,51	21,6 ± 2,02	18,8 ± 2,04	22,1 ± 1,05	21,2 ± 1,88
22,6 ± 0,66	21,2 ± 1,32	20,7 ± 1,15	21,8 ± 1,15	20,3 ± 1,23	

ung

		Änderung in %							
7. Tag	8. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag
		− 6,4	—	+ 5,1	—	—			
-0,1 ± 3,14		—	—	+ 9,3	—	—	− 5,6	—	
		—	—	+16,0	+ 9,3	+ 9,7			
		—	—	+13,9	+ 9,3				
		−10,8	+10,8	+13,4	+ 7,8 *)	+11,3	+15,0		
-4,4 ± 1,08	+2,7 ± 1,90	—	+16,2	+16,2	+15,7	+27,0	—	+23,8	+14,7
-0,9 ± 1,25		—	+ 4,1	+17,0	+ 9,3	+ 6,7	+12,4	—	

Es soll an dieser Stelle nicht versucht werden, die beschriebenen Veränderungen zu deuten, zumal die Ergebnisse der Na- und K-Bestimmungen noch nicht vorliegen. Die Befunde sind sicherlich aber wichtig für die Auswertung unserer Coffeinverversuche. Wir werden Verminderungen der Chlorausscheidungen am Tage nach der Coffeininjektion nicht auf eine Wirkung des Coffeins beziehen können. Ebenso werden die nachfolgende Vermehrung der Chlorausscheidung und die Harnvermehrung bei der Deutung der Coffeinversuche zu berücksichtigen sein.

Die an sich schon interessante Wirkung der subkutanen Wasserinjektion ist darüber hinaus bei Versuchen auch mit anderen Substanzen unbedingt zu berücksichtigen.

Die Wirkung einmaliger Coffeininjektion.

Unsere Untersuchungen umfassen Dosen von 1—10 mg pro 100 g. Nachdem orientierende Versuche eine Veränderung der Ausscheidung über eine Reihe von Tagen ergeben hatten, prüften wir mit einer Ausnahme (Gruppe 4 der Tabelle 3 und 4) die Wirkung jeder Injektion über 5—8 Tage. Entsprechend unseren Befunden bei der Injektion von destilliertem Wasser werden Veränderungen nach dem 3. Tage besonders wichtig sein.

A) Wirkung auf die Harnmenge:

Einen Überblick der Beobachtungen gibt die Tabelle 3.

Diese enthält, ebenso wie die später zu besprechende Tabelle 4 für die Chlorwerte, außer Angaben über die Zahl der Tiere und die Coffeindosis, die der Besprechung zugrunde liegenden Normalwerte, die Durchschnittswerte der einzelnen Gruppen an den Tagen nach der Coffeininjektion, die Differenzen dieser Durchschnittswerte gegenüber dem Normalwert und die prozentualen Änderungen.

Die Spalte der Normalwerte enthält drei verschiedene Angaben. Der Wert 15,6 ist aus nur 15 Einzelwerten gebildet, weil die Harnmengen an den davorliegenden Tagen mit Einsetzen der Heizperiode eine starke Schwankung aufgewiesen hatten. Daß dieser Wert brauchbar ist, zeigen die geringe Streuung, die kaum veränderten Werte nach der Coffeininjektion und vor allem die Rückkehr zu praktisch analogen Harnmengen am 4. und 5. Tag. Der Normwert 19,4 umfaßt 133 Einzelwerte. Er gilt für die Gruppen 2, 3, 4, 5 und 7, da die Übereinstimmungen normaler Harnmengen zweier Versuchsserien mit je zwei Tiergruppen zu einem Wert vereinigt werden konnten. Der 3. Normalwert (18,5) gehört zu den mit 45 g gefütterten Tieren und ist aus 71 Normalwerten gebildet.

Die Tabelle ergibt hinsichtlich der Beeinflussung der Harnmenge durch eine einmalige Injektion von Coffein folgendes:

Die nach der Dosis 1 mg/100 g (Gruppe 1) beobachteten Veränderungen sind so gering, daß von einer Wirkung nicht gesprochen werden kann. Diese Veränderungen sind geringer als die nach Injektion entsprechender Wassermengen beobachteten, doch zeigen einige Wasserversuche mit anderen Dosen (Gruppe 3 und 4 der Tabelle 1), daß stärkere Beeinflussung der Harnmenge nicht einzutreten braucht. Die Dosis 1 mg/100 g ist somit wirkungslos.

Die Wirkung von 2,5 mg/100 g wurde an den Gruppen 2 und 3 der Tabelle geprüft. Von diesen zeigt die Gruppe 2 eine Harnvermehrung um 9% am 3. Tage nach der Coffeininjektion, d. h. zur gleichen Zeit, zu der die Harnmenge nach Wasserinjektion praktisch immer vermehrt ist. Es ist somit auch in dieser Gruppe eine Coffeinwirkung nicht anzunehmen. Anders liegen die Verhältnisse in der Gruppe 3. Hier übersteigt zwar die Harnvermehrung am 3. Tag nicht die Harnvermehrung nach Wasserinjektion. Es folgen aber zwei weitere Versuchstage, an denen die Harnmenge um rund 10% vermehrt ist. Die für die Steigerungen an diesen beiden Tagen errechnete Wahrscheinlichkeit von 92 und 99% ergibt eine Coffeinwirkung. Es ist auch durchaus möglich, daß die Harnvermehrung am 3. Tage zum Teil auf einer Coffeinwirkung beruht. In unserem Material würde also hinsichtlich der Wasserausscheidung die Grenzdosis bei 2,5 mg/100 g liegen.

Bei den Versuchen mit 5 mg/100 g ist demgegenüber an allen drei Gruppen (4, 5 und 6) eine Wirkung zu erkennen. Diese zeigt sich deutlich am 4. Tag der Gruppe 4 (nicht weiter geprüft), am 4., 5. und 6. Tag der Gruppe 5 und am 4., 5., 7. und 8. Tag der Gruppe 6. Darüber hinaus machen die Steigerungen am 3. Tag, die über dem Durchschnitt der zur gleichen Zeit nach Wasserinjektion beobachteten Steigerungen der Harnmenge liegen, eine Coffeinwirkung bereits für diesen Tag wahrscheinlich.

Ähnlich liegen die Verhältnisse in der Gruppe 7, bei den mit 10 mg/100 g gespritzten Tiere. Die Injektion entsprechender Wassermengen (Gruppe 6 bis 8 der Tabelle 1) hatte Harnvermehrung am 1., 2. und 3. Tag ergeben. Dagegen war die Harnmenge am 4. Tag normal. Unter diesen Umständen können bei den Coffeinversuchen nur die späteren Tage berücksichtigt werden, die mit Steigerungen von 9, 7 und 12% und Wahrscheinlichkeiten von 83, 74 und 96% eindeutig eine Wirkung zeigen.

Man kann die Befunde dahin zusammenfassen, daß die subkutane Injektion von 5 und 10 mg/100 g eine Steigerung der

Tabelle 4 Cl-Mengen i

a)

Nr.	Zahl der Tiere	Normalwert	Coffeindosis mg/100 g	1. Tag	2. Tag
1	10	0,54 ± 0,01*)	1,0	0,45 ± 0,03	0,64 ± 0,0
2	5	wie 1	2,5	0,50 ± 0,01	0,47 ± 0,0
3	5	wie 1	2,5	0,43 ± 0,07	0,60 ± 0,0
4	5	wie 1	5,0	0,50 ± 0,02	0,52 ± 0,0
5	4	wie 1	5,0	0,43 ± 0,06	0,57 ± 0
6	4	0,61 ± 0,01**)	5,0	0,35 ± 0,03	0,67 ± 0,0
7	5	wie 1	10,0	0,56 ± 0,07	0,40 ± 0,0

*) Durchschnittswert aus 153 Einzelwerten.

**) Versuche mit 45 g Futter; Durchschnittswert aus 64 Einzelwerten

b) A

Nr.	Differenz gegenüber Normalwer					
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag
1	−0,09 ± 0,03	+0,1 ± 0,02	+0,09 ± 0,02	+0,03 ± 0,03	−0,1 ± 0,02	
2	−0,04 ± 0,02	−0,07 ± 0,04	0,0 ± 0,02	−0,1 ± 0,03	+0,04 ± 0,03	−0,06 ±
3	−0,11 ± 0,07	+0,05 ± 0,07	+0,16 ± 0,02	−0,01 ± 0,05	0,0 ± 0,03	
4	−0,04 ± 0,02	−0,02 ± 0,03	+0,06 ± 0,04	+0,04 ± 0,06		
5	−0,11 ± 0,06	−0,03 ± 0,05	+0,17 ± 0,06	−0,03 ± 0,04	+0,13 ± 0,06	+0,07 ±
6	−0,26 ± 0,04	+0,06 ± 0,03	+0,14 ± 0,05	+0,07 ± 0,04	+0,06 ± 0,08	−0,08 ±
7	+0,02 ± 0,07	−0,14 ± 0,03	+0,13 ± 0,03	+0,10 ± 0,03	+0,05 ± 0,02	+0,02 ±

amaligen Coffeingaben

nde

Durchschnittswerte					
3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag
0,63 ± 0,02	0,57 ± 0,03	0,44 ± 0,01			
0,54 ± 0,02	0,44 ± 0,03	0,58 ± 0,03	0,48 ± 0,02	0,58 ± 0,03	
0,70 ± 0,02	0,53 ± 0,01	0,54 ± 0,01			
0,60 ± 0,04	0,58 ± 0,06				
0,71 ± 0,06	0,51 ± 0,04	0,67 ± 0,05	0,61 ± 0,04		
0,75 ± 0,05	0,68 ± 0,04	0,67 ± 0,08	0,53 ± 0,05	0,77 ± 0,04	0,62 ± 0,07
0,67 ± 0,03	0,64 ± 0,03	0,59 ± 0,02	0,56 ± 0,05	0,52 ± 0,04	

ertung

		Änderung in %							
7. Tag	8. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag
		−20,0	+22,0	+20,0	+ 6,7	−22,2			
0,04 ± 0,03		− 7,4	−12,9	—	−20,0	+ 7,4	−11,1	+ 7,4	
		−22,2	+11,1	+27,8	—	—			
		− 7,4	—	+11,1	—				
		−20,4	—	+31,5	− 5,6	+24,1	+15,0		
0,16 ± 0,04	+0,01 ± 0,07	−42,6	+ 9,8	+23,0	+11,5	+ 9,8	−13,1	+26,2	—
0,02 ± 0,04		—	−26,0	+24,0	+18,5	+ 9,3	—	—	

Wasserausscheidung bewirkte. 2,5 mg/100 g waren nur in einer Tiergruppe wirksam. Entsprechend den Verhältnissen nach Wasserinjektion ist bei unseren Werten eine eindeutige Beurteilung erst vom 4. Tage nach der Coffeininjektion möglich. Die bei allen fünf in Frage kommenden Versuchsgruppen am 4. Tage und später beobachteten Vermehrungen der Harnmenge beweisen eindeutig, daß einmaligen Coffeininjektionen eine langdauernde Wirkung zukommt.

B. Wirkung auf das Harnchlor.

Über die Wirkung einmaliger Coffeininjektionen auf die Cl-Ausscheidung gibt die Tabelle 4 Aufschluß.

Diese Tabelle entspricht in ihrer Anordnung und der Bezeichnung der Tabelle 3. Die beiden Normalwerte sind aus 153 bzw. 64 Einzelwerten gewonnen. Der Normalwert 0,61 wurde bei Tieren mit 45 g Futter pro Tag erhalten. Es sei erwähnt, daß der Wert 0,54 Millimol dem bei gleicher Diät ermittelten Wert einer anderen Serie (0,52 bei Gruppe 2 der Tabelle 2) und ebenso dem Normalwert 0,52 aus einer entsprechenden Serie aus den älteren Untersuchungen entspricht.

Unser Material ergibt folgende Wirkung des Coffeins auf die Cl-Ausscheidung. Nach der Dosis 1 mg/100 g zeigte sich eine beträchtliche Verminderung der Cl.-Ausscheidung am 1. Tag, der starke Vermehrung am 2. und 3. Tage folgten. Derartige Erscheinungen wurden aber auch nach Injektion von destilliertem Wasser beobachtet (vgl. Tabelle 2). Auffallend bleibt allerdings, daß die Steigerungen am 2. und 3. Tage größer waren als die jemals nach Wasserinjektion aufgetretenen. Auch bei den Versuchen mit 2,5 mg/100 g zeigte sich in einer Gruppe (3) nach einer Cl-Verminderung am 1. Tag eine bedeutende Vermehrung am 2. und 3. Tag, bei der die Steigerung des 3. Tages erheblich über der durch Wasser bewirkten lag.

Betrachtet man die Verhältnisse für 1 und 2,5 mg zusammen, so fallen zwei erhebliche Verminderungen der Cl-Ausscheidung, und zwar am 3. Tag der Gruppe 1 und am 4. Tag der Gruppe 2, auf. Dieser Verminderung folgen in der Gruppe 2 kleinere Schwankungen über drei Tage. Man kann aus den beiden starken Cl-Vermehrungen am 3. Tag und diesen Verminderungen und Schwankungen schließen, daß das Coffein in der angegebenen Dosierung zwar keine länger anhaltende Vermehrung der Cl-Ausscheidung, wohl aber stärkere Schwankungen derselben und zum Teil Steigerungen am 3. Tage bewirkte.

Von den Versuchen mit 5 mg/100 g sind die der Gruppe 4 am wenigsten eindeutig. Man kann lediglich feststellen, daß die

Cl-Verminderung am 1. Tage mit 7% wesentlich geringer ist als die durch Wasserinjektion bewirkte. Man könnte also bestenfalls schließen, daß die Wirkung der Injektion zum Teil durch Coffein kompensiert wurde. Eindeutig sind dagegen die Verhältnisse bei den Gruppen 5 und 6. Hier sind einmal die am 3. Tage nach der Injektion beobachteten Steigerungen größer als die Steigerungen nach Wasserinjektion. Ihnen folgen weitere Steigerungen am 5. und 6. Tag der Gruppe 5 und am 4. und 7. Tag der Gruppe 6. 5 mg/100 g Coffein besitzen somit eine eindeutige Wirkung auf die Ausscheidung von Chlor.

Eine solche Wirkung über drei Tage hinaus zeigen auch die 10 mg-Versuche (Gruppe 7). Auch hier ist der Wert des 3. Tages zum Teil auf eine Coffeinwirkung zu beziehen. Ob das Ausbleiben der von den Wasserversuchen her bekannten Cl-Verminderung am 1. Tag und die Verminderung am 2. Tage auf die Coffeininjektion zu beziehen sind, soll nicht entschieden werden, da bei den Wasserversuchen einmal, allerdings mit einer ganz anderen Dosis, ähnliche Verhältnisse beobachtet wurden.

Die in Tabelle 4 zusammengestellten Befunde ergeben in den Versuchen mit 5 und 10 mg/100 g eine langanhaltende Wirkung des Coffeins auf die Cl-Ausscheidung. In den Versuchen mit kleineren Dosen fanden sich zwar länger anhaltende Schwankungen der Chlorwerte, aber nur zum Teil eine auf Coffein zu beziehende Erhöhung am 3. Tage.

Wir haben somit als Folge einer einmaligen Coffeininjektion eine Steigerung der Ausscheidung von Wasser und Chlor über eine Reihe von Tagen festgestellt. Die Beobachtungen wurden jeweils am 5. bis 8. Tag nach der Injektion abgeschlossen, weil die später auftretenden Änderungen nicht mehr eindeutig zu bewerten sind. Es ist nicht anzunehmen, daß zu dieser Zeit die Veränderungen bereits beendet sind. Errechnet man die Gesamtbilanzen für die Beobachtungsperioden, so ergibt sich zumeist noch ein Überwiegen der Ausscheidung. Dieses wird sich in der Folgezeit ausgleichen, wenn auch anscheinend ganz allmählich. Es ist also wahrscheinlich und in einigen Versuchen auch zu erkennen, daß Harnmenge und Harnchlor nach Abschluß der Steigerung bis zur Erzielung des Gleichgewichtes Verminderungen aufweisen.

Zusammenfassung.

In langfristigen Versuchsperioden mit konstanter Diät wurde an Ratten die Wirkung einmaliger subkutaner Injektion von destilliertem Wasser und von Coffein auf die Harnmenge und auf die Ausscheidung von Chlor in Harn und Faeces geprüft. Dabei ergab sich folgendes:

1. Die Ausscheidung von Chlor in den Faeces wird durch die Verabfolgung von Wasser oder Coffein nicht beeinflußt.

2. Die subkutane Injektion von destilliertem Wasser in Mengen, die 0,1 bis 0,5% des Körpergewichtes entsprechen, beeinflußt sowohl die Harnmenge als auch das Harnchlor. Dabei ist die Harnmenge am 3. Tage nach der Wasserinjektion gesteigert, das Harnchlor am 1. Tage nach der Injektion vermindert, am 2. und 3.Tage gesteigert. Bei Injektion einer größeren Flüssigkeitsmenge (1% des Körpergewichts) trat die Harnvermehrung bereits am 1. und 2. Tage auf. Der Chlorverminderung am 1. Tage folgte eine Steigerung am 2. Tage. Am 4. Tage waren Harnmenge und Harnchlor stets wieder normal.

3. Die einmalige subkutane Injektion von Coffein bewirkt langdauernde Veränderungen der Harnmenge und des Harnchlors. Hinsichtlich der Harnmenge war die Dosis 1 mg/100 g Körpergewicht unwirksam, dagegen bewirkten 2,5 mg/100 g zum Teil, 5 und 10 mg/100 g immer Steigerungen über den 3. Tag nach der Injektion hinaus. Diese Steigerungen waren teilweise noch am 6. bis 8. Tage nach der Injektion vorhanden. Die Chlorausscheidung war, mit einer Ausnahme, bei der die Verminderung erst am 2. Tage eintrat, bei allen Dosen am Tage nach der Injektion vermindert. Doch ist dieses Verhalten entsprechend den Wasserversuchen sehr wahrscheinlich auf die Injektion und nicht auf das Coffein zu beziehen. Die Injektion von 1 bis 2,5 mg/100 g bewirkte zum Teil Chlorvermehrung am 3. Tag, die über die Chlorvermehrungen in den Wasserversuchen hinausgingen. 5 und 10 mg/100 g riefen darüber hinaus Vermehrungen der Chlorausscheidung am 4. bis 7. Tag nach der Injektion hervor.

4. Die hinsichtlich der Harnmenge und des Harnchlors erhobenen Befunde lassen auf eine wesentliche Beteiligung extrarenaler Faktoren schließen.

Lebenslauf

Am 30. Juli 1911 wurde ich, Alfons Irmer, als Sohn des Erbbauern Julius Irmer und seiner Ehefrau Maria, geb. Langer, zu Achthuben, Kreis Neustadt OS., geboren. Nach dem Besuch der Deutschen Oberschule zu Oberglogau, wo ich 1933 die Reifeprüfung bestand, wandte ich mich dem Studium der Zahnheilkunde zu. Ich studierte in Breslau und legte 1936 das Physikum und 1938 das Staatsexamen ab.

Alfons Irmer.